

JP61263996

Publication Title:

NOVEL NUCLEOTIDE DERIVATIVE AND ITS PRODUCTION

Abstract:

Abstract not available for JP61263996

Abstract of corresponding document: GB2168353

A novel process for the preparation of a conjugate of a 21-hydroxy steroid and a nucleoside-5'-monophosphate comprises reacting the 21-hydroxy steroid with a derivative of the nucleoside-5'-monophosphate (in which hydroxy groups on the carbohydrate ring are protected) in the presence of 2,4,6-triisopropylbenzene sulphonyl chloride (TPS) as a condensing agent under anhydrous conditions and removing the hydroxy protecting groups from the conjugate thereby obtained. Such conjugates and their salts are useful as anticancer and antiviral agents. Data supplied from the esp@cenet database - Worldwide cb5

Courtesy of <http://v3.espacenet.com>

⑫ 公開特許公報 (A)

昭61-263996

⑤ Int. Cl.⁴ 識別記号 庁内整理番号 ④ 公開 昭和61年(1986)11月21日
 C 07 H 19/10 6742-4C
 19/14 6742-4C
 19/20 6742-4C
 // A 61 K 31/70 ADU 7252-4C
 ADY
 審査請求 未請求 発明の数 3 (全 14 頁)

⑥ 発明の名称 新規ヌクレオシド誘導体およびその製造法

⑦ 特 願 昭60-275853

⑧ 出 願 昭60(1985)12月7日

優先権主張 ⑨ 1984年12月7日 ⑩ 韓国(KR) ⑪ 84-7754

⑫ 1985年8月22日 ⑬ 韓国(KR) ⑭ 85-6039

⑮ 発 明 者 チャン・イル・ホン アメリカ合衆国ニューヨーク州14221, ウィリアムズビル, フォーレスト・ヒル・ロード 52

⑯ 出 願 人 保寧製薬株式会社 大韓民国ソウル特別市鐘路区苑南洞66-21

⑰ 代 理 人 弁理士 湯浅 恭三 外4名

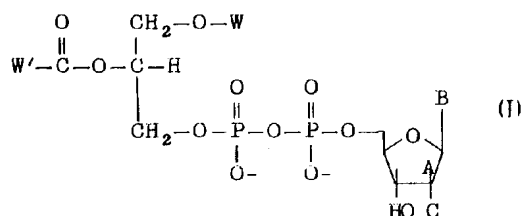
明 細 書

1. [発明の名称]

新規ヌクレオシド誘導体およびその製造法

2. [特許請求の範囲]

(1) 式



(式中、Bはアデニン、シトシン、5-フルオロウラシル、5-アザシトシン、6-メルカプトプリンまたは7-デアザアデニンであり、

AおよびCはそれぞれ水素またはヒドロキシ基であり、

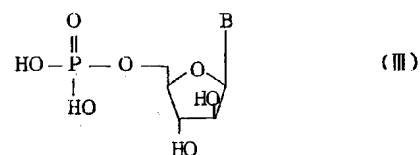
Wは8-20個の炭素原子を有する飽和または不飽和アルキル基または2あるいは3-アルコキシアルキル基であり、

W'は7-19個の炭素原子を有する飽和また

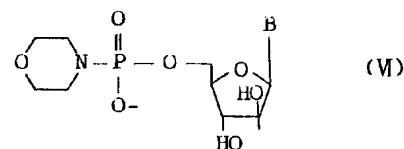
(1)

は不飽和アルキル基である)を有するヌクレオシド誘導体および製薬上受容可能な毒性のない塩。

(2) 式

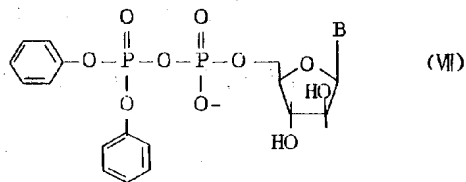


(式中、Bはアデニン、シトシン、5-フルオロウラシル、5-アザシトシン、6-メルカプトプリンまたは7-デアザアデニンである)を有するヌクレオシドを縮合して、式



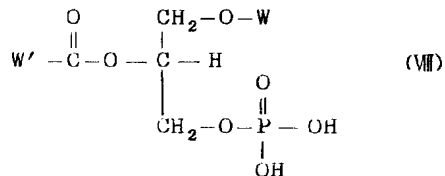
(式中、Bは上記定義の通りである)を有するモノホリデートまたは式

(2)



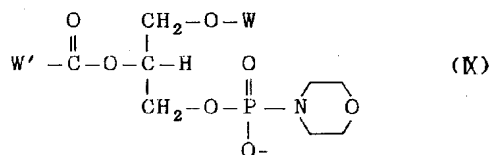
(式中、Bは上記定義の通りである)を有する

P¹-ヌクレオシド-5'-P²-ジフェニルピロホスフェートとし、次いで式



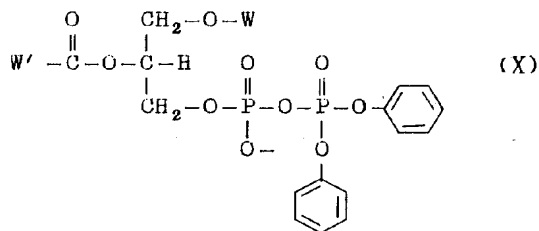
(式中、Wは8から20個の炭素原子を有する飽和または不飽和アルキル基または2或は3-アルコキシアルキル基であり、W'は7から19個の炭素原子を有する飽和または不飽和アルキルである)を有する1-O-アルキル-2-O-アシルグリセロール-3-ホスフェートと反応させて、式

(3)



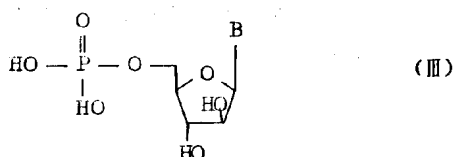
(式中、WおよびW'は上記定義の通りである)

を有する磷脂質モルホリデートまたは式

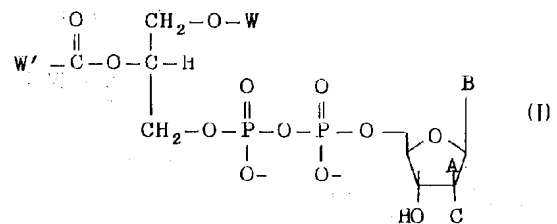


(式中、WおよびW'は上記定義の通りである)

を有するP¹-グリセロール-5'-P²-ジフェニルピロホスフェートとして、次いでこれを式

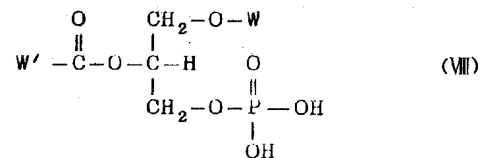


(5)



(式中、AおよびCはそれぞれ水素またはヒドロキシ基である)を有するヌクレオシド抱合体またはその塩を得ることを特徴とする、式(I)を有するヌクレオシド抱合体の製造法

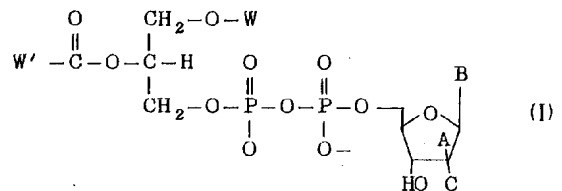
(3) 式



(式中、Wは8から20個の炭素原子を有する飽和または不飽和アルキル基または2或は3-アルコキシアルキル基であり、W'は7から19個の炭素原子を有する飽和または不飽和アルキル基である)を有する磷脂質を縮合して、式

(4)

(式中、Bはアデニン、シトシン、5-フルオロウラシル、5-アザシトシン、6-メルカプトプリンまたは7-デアザアデニンである)を有するヌクレオシドと反応させて、式



(式中、AおよびCはそれぞれ水素またはヒドロキシ基である)を有するヌクレオシド抱合体またはその塩を得ることを特徴とする、式(I)を有するヌクレオシド抱合体の製造法。

(4) 目的化合物が1-β-D-アラビノフラノシルシトシン-5'-ジホスフェート-1-O-オクタデシル-2-O-パルミトイル-sn-グリセロールである特許請求の範囲第1項記載の化合物。

(5) 目的化合物が1-β-D-アラビノフラノシルシトシン-5'-ジホスフェート-rac-1-

(6)

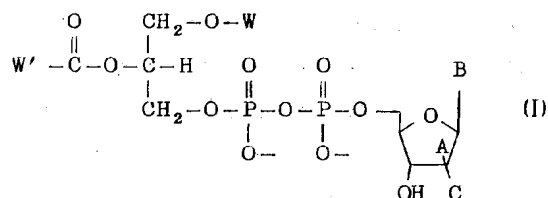
O-オクタデシル-2-O-パルミトイルグリセロールである特許請求の範囲第1項記載の化合物。

(6) 目的化合物が1-β-D-アラビノフラノシルシトシン-5'-ジホスフェート-rac-1-O-ヘキサデシル-2-O-パルミトイルグリセロールである特許請求の範囲第1項記載の化合物。

(7) 目的化合物が9-β-D-アラビノフラノシルアデニン-5'-ジホスフェート-rac-1-O-ヘキサデシル-2-O-パルミトイルグリセロールである特許請求の範囲第1項記載の化合物。

3. [発明の詳細な説明]

本発明は新規ヌクレオシド誘導体および式



(式中、Bはアデニン、シトシン、5-フルオウラシル、5-アザシトシン、6-メルカプトプリンまたは7-デアザアデニンであり、

(7)

最初に合成された。

本発明者等 [ジャーナル オブ メディカル ケミストリー (J. of Medical Chemistry) 25, 1322 (1982), バイオケミカル アンド バイオフィジカル リサーチ コミュニケーション (Biochemical and Biophysical Research Communication) 85, 715 (1978)] および他の研究者等 [バイオヒミカ エ バイオフィジカ アクタ (Biochimica et Biophysica Acta) 69, 604 (1980)] は、類似化合物の1,2-ジアシルグリセロヌクレオシド抱合体を開示した。この先行技術では、ヌクレオシド-5'-モノホスホホルリデートを1,2-ジアシルグリセロ-3-ホスフェートと反応させて、この類似化合物を得た。しかし、本発明の磷脂質部分は1-O-アルキル-2-O-アシルグリセロ-3-ホスフェートから成っており、ヌクレオシドとの新規抱合体は先行技術には報告されておらず、本発明者によつて初めて製造された。

本発明を以下に詳細に説明する。

(9)

AおよびCはそれぞれ水素またはヒドロキシ基であり、

Wは8-20個の炭素原子を有する飽和または不飽和アルキル基または2あるいは3-アルコキシアルキル基であり、

W'は7-19個の炭素原子を有する飽和または不飽和アルキル基である)を有する抗癌剤および抗ウイルス剤として有用な新規ヌクレオシド誘導体およびそれらの塩の製造法に関する。

式(I)では、磷脂質は光学異性体のL・DおよびDL型を包含し、代表的なヌクレオシドには、9-β-D-アラビノフラノシルアデニン(以下においては、ara-Aと表す)、1-β-D-アラビノフラノシルシトシン(以下においては、ara-Cと表す)、5-フルオロ-2'-デオキシウリジンまたはその他の抗癌剤および抗ウイルス剤として使用することができるヌクレオシドがある。

本発明は、1-O-アルキル磷脂質とヌクレオシドとの抱合体の新規製造法に関する。

式(I)を有する新規化合物は、本発明者によつて

(8)

本発明の目的は、特異な分子構造と物理科学的特性を有する新規抗癌および抗ウイルス剤を提供することである。

本発明のもう一つの目的は、特異な分子構造と物理科学的特性を有する前記の新規抗癌および抗ウイルス剤の新規且つ高収率での製造法を提供することである。

更にもう一つの本発明の目的は、抗癌および抗ウイルス剤としての新規クラスの磷脂質抱合体の製造法を提供することである。

本発明のもう一つの目的は、抗癌および抗ウイルス剤の腫瘍細胞への新規伝達系として作用し且つリソゾモトロピズム(lysosomotropism)または関連した膜現象のプロセスにより癌細胞に浸透する脂質ベヒクル(リソソーム)を形成する新規クラスのリボヌクレオシド化合物を提供することである。

本発明の抗癌剤は、腫瘍細胞に浸透した後、細胞内で磷脂質-酵素特異反応または非特異的機構によつて抗癌および抗ウイルスヌクレオシドまたは

(10)

はヌクレオチドに分離し、細胞が磷脂質の特異的な結合部位を有する場合には、それが特異的標的化合物になる。更に、有効な活性を得るのにホスホリル化を必要とするヌクレオシドについて、抱合体はかかる機能を供し、ヌクレオシドキナーゼを欠くレジスティング細胞(resisting cells)に対して優れた治療効果を生じる。更にこの1-O-アルキルホスホリド自身は製薬効果、特に抗癌および免疫転形作用(immunomodulating activity)を有し、ヌクレオシドと1-O-アルキルホスホリドとの結合は好都合な付加的または相乗的效果を生じる。換言すれば、1-O-アルキルホスホリド、1-O-アルキル-2-リソホスホリドおよびその誘導体のうち、1-O-アルキル-2-O-メチルホスファチジル-コリンまたは-エタノールアミンは、各種動物の癌に対する抑制および予防作用および免疫転形作用を有することが開示される[アンティキヤンサー リサーチ(Anticancer Research) 1, 135および345(1981); セミナー イン イミューノ

(11)

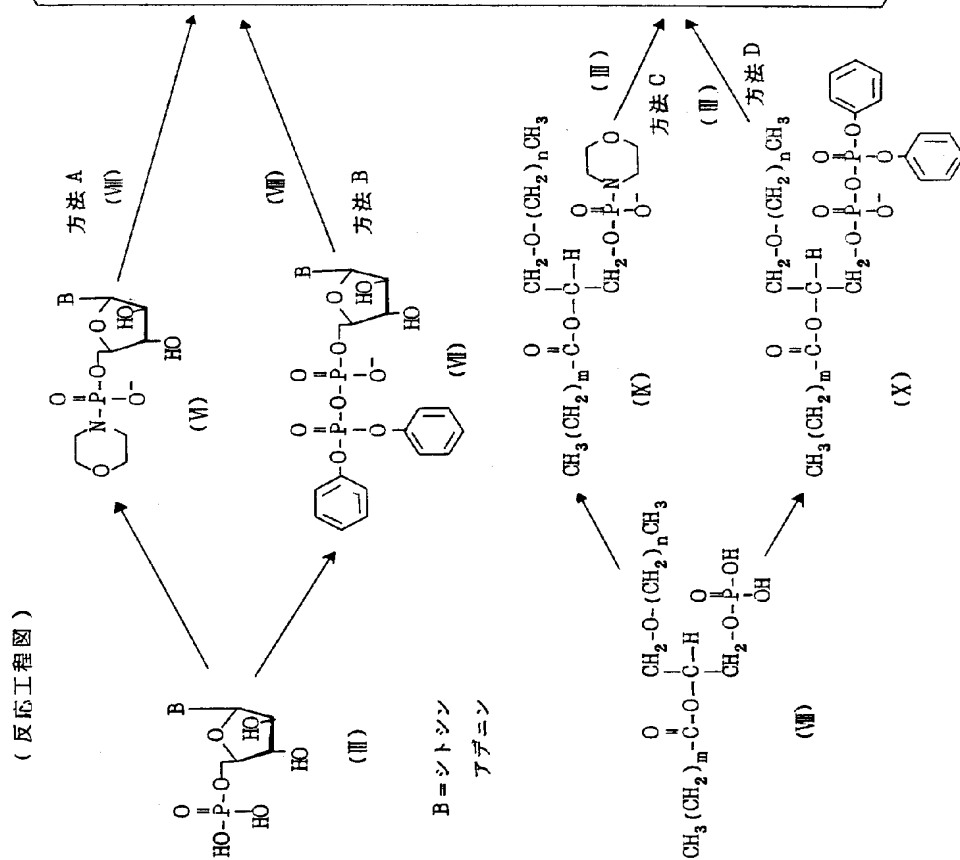
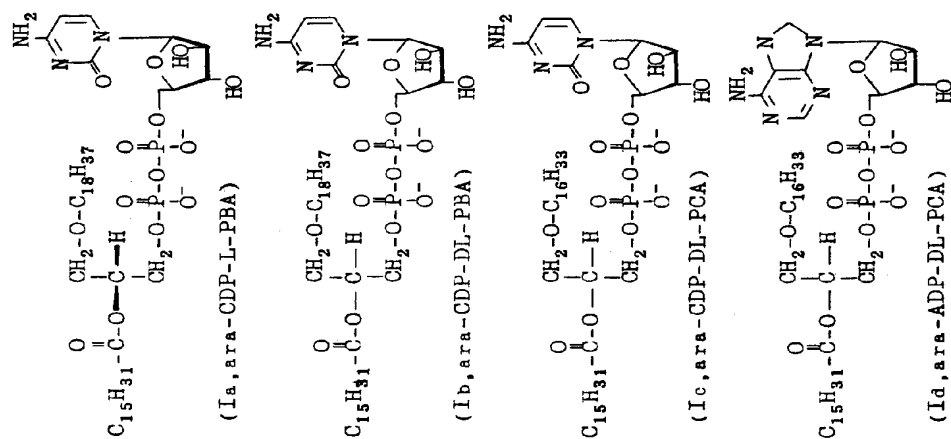
ド(VIII)をそのモルホリデート(IX)または P^1 -グリセロ-5'- P^2 -ジフェニルピロホスフエート(X)とした後、それをヌクレオチド(III)と反応させて抱合体(Ic)から(Id)を得る(反応工程図、方法Cおよび方法D)。

本発明の化合物およびそれらの塩は、通常の製薬上受容可能な有機および無機担体物質と混合して用いることができる。本発明の化合物は、エマルジョン、懸濁液、アンプル、粉末、顆粒、カプセル、錠剤などの通常の受容可能な携帯の一つであつてもよい。また、それは通常の充填剤、防腐剤、安定剤、分散剤、蒸発剤、緩衝剤および着色剤を含んでいてもよい。

パソロジー(Seminar in Immunopathology)第3巻、187-203(1979)]。抱合体のままである限り、ara-Cまたはara-Aのアミノ基は、シチジンデアミナーゼまたはアデノシンデアミナーゼによる脱アミノが防止される。抱合体それ自身は親油性であるので、それは一種の持続性リリースプロドラッグ(sustained release prodrug)として作用し、標的細胞に到達してこの細胞中で抱合体をホスホリドとヌクレオシドとに加水分解する。これは二種の医薬品を投与するのと同じ結果になるので、抗癌剤治療指数を増加する両者の製薬効果を期待することができる。

式(I)の化合物の製造法を、下記の反応工程図に模式的に示す。ヌクレオチド(III)を縮合して、モルホリデート(VI)または P^1 -ヌクレオシド-5'- P^2 -ジフェニルピロホスフエート(VII)とした後、1-O-アルキル-2-O-アシルグリセロホスフエート(VIII)と反応させることにより抱合体(Ia)から(Id)を得る(反応工程図、方法Aまたは方法B)。他の経路では、ホスホリド

(12)



下記の実施例は単に説明のためのものであり、本発明を限定することを意図するものではない。

実施例 1

1-β-D-アラビノフラノシルシトシン-5'-ジホスフェート-1-O-オクタデシル-2-O-パルミトイル-α-D-グリセロールまたは1-β-D-アラビノフラノシルシトシン-5'-ジホスフェート-β-パルミトイル-L-パチルアルコール (Ia, ara-CDP-L-PBA)

1.7 g (2.6 ミリモル) の 1-O-オクタデシル-2-O-パルミトイル-α-D-グリセロール-3-ホスフェート (VIII, n=17, m=14, L-異性体) をピリジンと共に共蒸発させて乾固した後、1.8 g (2.6 ミリモル) の ara-CMP モルホリデート 4-モルホリン-N', N'-ジシクロヘキシルカルボキサミジニウム塩 (VI, B=シトシン) と混合した。混合物を 150 ml の蒸餾ピリジンに溶解して、無水条件で室温で 5 日間撹拌した。次いで、ピリジンを減圧で除去し、微量のピリジンをトルエンの共蒸発によつて除去した。残渣を

(15)

- 融点: 199-202°C
- $[\alpha]_D^{25} = +3.35^\circ$ (c=0.23, クロロホルム-メタノール-水 2:3:1)
- NMR (90 MHz): 溶媒 (CDCl₃-CD₃OD-D₂O, 2:3:1): δ ppm 0.95 (6, t, 2CH₃), 1.14-1.87 (58, m, 29CH₂), 2.29 (2, t, CH₂-C=O), 3.27-4.42 (11, m, H2', H3', H4', H5', CH₂-O-CH₂ 及び CH₂-O-), 5.15 (1, m, グリセロール CH), 5.94 (1, d, J=7 Hz, シトシン H5), 6.18 (1, d, J=5 Hz, H1), 7.80 (1, d, J=7 Hz, シトシン H6)

- 元素分析: C₄₆H₈₇N₃O₁₄P₂·1.5(CH₃)₂CO·H₂O
- | | C | H | N | P |
|-----|-------|------|------|------|
| 計算値 | 56.51 | 9.20 | 3.92 | 5.77 |
| 実測値 | 56.81 | 9.27 | 3.69 | 5.87 |

実施例 2

1-β-D-アラビノフラノシルシトシン-5'-ジホ

(17)

15 ml の乾燥酢酸と 150 ml のクロロホルム-CH₃OH-水 (2:3:1) に溶解して、室温で 1 時間撹拌し、この溶液に 250 ml のクロロホルムを加えた。有機溶媒層を分離して、減圧下で濃縮し、微量の残存している酢酸を 3 段階で 10 ml のトルエンと共に共蒸発することによつて除去した。残渣を 100 ml の CMW 溶媒に溶解し、DE-52 (アセテート) セルロースカラム (2.5×50 cm, ジャケット付き, 5°C) に吸着させた後、カラムを 0-0.15 M NH₄OAc 線形勾配溶媒 CMW (各 1500 ml) で溶出した。900-1500 ml の溶出液を集めて、減圧下で 30°C 以下の温度で蒸発させ、白色結晶を生成させた。この白色結晶性粉末を水で洗浄し、濾過した後、ナトリウム塩に転換するため CMW に溶解して、次いでアンパライト (Amberlite) CG-50 (Na⁺) カラム (2.5×15 cm) にかけて、溶出液を集めて減圧下で蒸発した。残渣をクロロホルムおよびアセトンから結晶化させると、820 mg (3.12%) の白色の目的化合物を得た。

(16)

ホスフェート-rac-1-O-オクタデシル-2-O-パルミトイルグリセロール (Ib, ara-CDP-DL-PBA)

(1) 方法 A (反応工程図、方法 A)

表記化合物は、rac-1-O-オクタデシル-2-O-パルミトイルグリセロール-3-ホスフェート (VIII, n=17, m=14, DL-混合物) を ara-CMP-モルホリデート (VI, B=シトシン) と縮合することによつて調製し、次いで上述のように分離して 35% の収率で目的化合物を得た。クロマトグラフィでの移動度および NMR データは、理論値と一致した。

(2) 方法 B (反応工程図、方法 B)

表記化合物は、下記の方法によつて調製した。323 mg (1 ミリモル) の ara-CMP (III, B=シトシン) と 371 mg (1 ミリモル) のトリ-n-オクチルアミンを 7 ml の熱メタノールに溶解し、次いで溶媒を減圧下で蒸発させ、残渣を再度 N, N'-ジメチルホルムアミド (DMF) に溶解し、減圧下で蒸発させ、残渣中に残っている痕跡量の水

(18)

を除去した。こうして得た乾燥 *ara*-CMP-トリ-O-オクチルアンモニウム塩を10 mlのジオキサンおよび5 mlのDMFに溶解し、この溶液に0.3 mlのジフェニルホスホクロリデートおよび0.45 mlのトリ-n-ブチルアミンを加えて、混合物を無水条件下で室温で2から3時間反応させた。溶媒を減圧下で留去した後、50 mlのエーテルを加えてP¹-(1-β-D-アラビノフラノシルシトシン-5'-イル)-P2-ジフェニルピロホスフェート(VII, B=シトシン)を沈澱させ、0℃で30-60分間保持した後、エーテルを除去した。沈澱を2 mlのジオキサンに溶解させ、沈澱中の痕跡量の水を減圧下で留去した。P₂O₅上で663 mg(1ミリモル)の*rac*-1-O-オクタデシル-2-O-パルミトグリセロ-3-ホスフェート(VIII, n=17, m=14, DL-混合物)を一晩乾燥した後、1 mlの無水ピリジンに溶解し、次いで上記のピロホスフェート(VII)を0.5 mlのジオキサンに溶解したものと無水条件下で室温で一日間反応させた。反応後、溶媒を減圧で

(19)

3-ホスフェート(VIII, n=15, m=14, DL-混合物)を、300 mlの無水ピリジン中で3.43 g(5ミリモル)の*ara*-CMP-モルホリデート(VI, B=シトシン)と、無水条件下で室温で5日間反応させた。ピリジンを減圧で蒸発させ、残渣を実施例1に記載したように処理し、DE-52(アセテート)セルロースカラム(2.5×50 cm、ジャケット付き、5℃)に吸着させた後、0-0.15 M NH₄Acを含む線形勾配CMW溶媒(各1500 ml)で溶出し、目的化合物を含む画分をまとめて30℃以下の温度で減圧で濃縮して、白色結晶を生成させた。こうして得た結晶をアンバーライトCG-50(Na+)カラムで処理することにより、目的化合物を30%の終了で得た。

1) 融点: 202-205℃(分解)

2) NMR(90MHz): 溶媒(CDCl₃-CD₃OD-D₂O, 2:3:1): δ_{ppm} 0.87(6, t, 2CH₃), 1.07-1.78(54H, m, 27CH₂), 2.35(2, t, CH₂-C=O), 3.27-4.35(11, m, H_{2'}, H_{3'}, H_{4'}, H_{5'}, CH₂-O-CH₂, CH₂-O),

(21)

留去し、こうして得た残渣に25 mlのエーテルを加え、目的化合物を沈澱させた。こうして得た沈澱を100 mlのCMWに溶解させ、DE-52(アセテート)セルロースカラム(2.5×50 cm、ジャケット付き、5℃)に吸着させた後、上述のように溶出させ、精製すると、30%の収率で目的化合物を得た。クロマトグラフィーでの移動度およびNMRデータは、理論値と一致した。

実施例 3

1-β-D-アラビノフラノシルシトシン-5'-ジホスフェート-*rac*-1-O-ヘキサデシル-2-O-パルミトイルグリセロールまたは1-β-D-アラビノフラフシルシトシン-5'-ジホスフェート-β-パルミトイル-DL-チミルアルコール(Ic, *ara*-CDP-L-PCA)

(1) 方法A(反応工程図、方法A)

基本的には、この化合物は実施例1に記載したのと同じ方法で調製される。ピリジンと共蒸発させた4.19 g(6.6ミリモル)の*rac*-1-O-ヘキサデシル-2-O-パルミトイルグリセロ-

(2)

5.15(1, m, グリセロール CH), 5.92(1, d, J=7Hz, シトシン H₅), 6.14(1, d, J=5Hz, H_{1'}), 7.88(1, d, J=7Hz, シトシン H₆)

3) 元素分析: C₄₄H₈₁N₃O₁₄P₂Na₂·0.5 H₂O

	C	H	N	P
計算値	53.21	8.43	4.23	6.24
実測値	53.69	9.27	3.92	5.72

(2) 方法B(反応工程図、方法C)

3.17 g(5ミリモル)の*rac*-1-O-ヘキサデシル-2-O-パルミトイルグリセロ-3-ホスフェート(VII, m=15, n=14, DL-混合物)と、1.7 ml(20ミリモル)のモルホリンと、50 mlのt-ブチルアルコールとから成る還流混合物に、4.12 g(20ミリモル)のN,N'-ジシクロヘキシルカルボジイミド(DCC)と75 mlのt-ブチルアルコールの溶液を滴下して加え、還流条件で2時間反応させた。反応混合物を室温で一晩攪拌した後、20 mlの水を加え、室温で2時間攪拌して、残りのDCCを分解した。こうして生成した白色結晶を濾過して除去し、濾液を減

(22)

圧で蒸発させて濃縮し、エーテルで抽出した。抽出物を減圧で蒸発させ、生成する残渣(Ⅸ, $n=15$, $m=14$, DL-C-混合物)をトルエンと二回共蒸発させた後、2.13g(6.6ミリモル)のara-CMP(Ⅲ, B=シトシン)と4.67g(13.2ミリモル)のトリ-n-オクチルアミンを加えて、混合物を再度ピリジンと3段階で共蒸発させて乾燥させた後、200mlのピリジンに溶解させ、無水条件で室温で7日間攪拌して反応させた。ピリジンを減圧で留去し、更に残っている痕跡量のピリジンを少量のトルエンと共蒸発させて完全に除去した。残渣を30mlの酢酸と300mlのCMW溶媒に溶解させ、室温で1時間攪拌した後、500mlのクロロホルムを加えた。有機層を分離して、減圧で濃縮し、残っている痕跡量の酢酸を10mlのトルエンと3段階で共蒸発することによつて完全に除去した。残渣を100mlのCMW溶媒に溶解させ、DE-52(アセテート)セルロースカラム(2.5×50cm, 5℃のジャケット付き)に吸着させ、次いで実施例1に記載し

(23)

ピリジンを減圧で留去し、残渣を実施例1に記載したのと同様の方法で処理し、DE-52(アセテート)セルロースカラム(2.5×50、ジャケット付き、5℃)に吸着させ、0-0.15M NH_4OAc を含む線形勾配CMW溶媒で溶出した後、アンバーライトCG-50(Na^+)カラムを通して、851mg(29%)のナトリウム塩を得た。

- 1) NMR(90MHz): 溶媒($\text{CDCl}_3\text{-CD}_3\text{OD-D}_2\text{O}$),
 2:3:1): δ_{ppm} 0.92(6, t, 2CH_3),
 1.07-1.78(54H, m, 27CH_2), 2.35(2, t, $\text{CH}_2\text{-C=O}$), 3.27-4.35(11, m, H_2' , H_3' , H_4' , H_5' , $\text{CH}_2\text{-O-CH}_2$; $\text{CH}_2\text{-O}$), 5.07(1, m, グリセロール CH), 6.33(1, d, J=4.5 H_2 , H_1'), 8.17(1, s, アデニン H_2), 8.40(1, s, アデニン H_8)

実験 1

L 1210 を腹腔内投与によるリンパ性白血病マウスに対する抗腫瘍活性:

DBA/2Jマウスに 1×10^6 または 1×10^5 個のL 1210 リンパ性白血病細胞を腹腔内投与

(25)

た方法と同様に0-0.15M NH_4OAc を含む線形勾配CMW溶媒で溶出し、目的化合物を30%の収率で得た。クロマトグラフィーでの移動度およびNMRデータは、理論値と一致した。

実施例 4

9- β -D-アラビノフラノシルアデニン-5'-ジホスフェート-rac-1-O-ヘキサデシル-2-O-パルミトイルグリセロールまたは9- β -D-アラビノフラノシルアデニン-5'-ジホスフェート- β -パルミトイル-DL-チミルアルコール(I d, ara-ADP-DL-PCA)(反応工程図、方法A)

1.90g(3ミリモル)のrac-1-O-ヘキサデシル-2-O-パルミトイルグリセロール-3-ホスフェート(Ⅶ, $n=15$, $m=14$, DL-混合物)をピリジンと3段階で共蒸発することによつて乾燥し、2.13g(3ミリモル)のara-AMPモルホリデート-4-モルホリン-N,N'-ジシクロヘキシル-カルボキサミジニウム塩(Ⅵ, B=アデニン)を200mlのピリジンに溶解し、溶液を無水条件で室温で7日間攪拌した。

(24)

し、24時間後に医薬を0.9% NaClに溶解して、マウスに注射して、45日間に互り生存率を計測した。試験は米国国立癌研究所プロトコル(キヤンサー ケモセラピーリポーツ 3, 1-103, 1972)に準拠して行つた。処理計画は、qd1, qd1, 5, 9およびqd1-5であつた。表1の最適投与量は、最大活性を生じる量である。広い投与量範囲に互つて試験を行つた。活性は、寿命の増加を比較することによつて測定した。これは、試験および対照群マウスの平均寿命を比較することによつて行つた。表1には、ara-Cおよびその抱合体ara-DCP-DL-PBA(I b)およびara-CDP-DL-PCA(I c)の治療結果を示している。第一の部分は、ara-C感受性L 1210リンパ性白血病マウスの結果を示す。無処理の対照マウスは、肺瘍細胞の接種後7または8日で死亡した。ara-Cを400mg(1644マイクロモル)/kgの最適単回投与で注射した場合には、寿命の増加(% ILS)は14%であり、一日に一回200mg(822マイクロモル)を5

(26)

日間注射した場合には、129% ILS になった。しかし、抱合体 ara-CDP-DL-PBA (Ib) および ara-CDP-DL-PCA (Ic) の400 mg (395および407マイクロモル)/kgの最適単回投与では、それぞれ257%および293%の優れた ILS を示した。最適投与量で5回注射した場合にも、それぞれ229%および264%の優れた ILS を生じた。ara-Cおよびその抱合体での単回投与の比較は、範囲外である。5回投与計画では、抱合体は ara-C モル投与量の1/8または1/10の投与量で2倍の効果を示し、毒性はずつと少なかった。第二に、少量存在しているデオキシシチジンキナーゼによる ara-C 耐性 L 1210リンパ性白血病マウスの治療処理の結果では、無処理の対照マウスは腫瘍細胞の接種後8から11日で死亡した。ara-Cの単回投与処理では、ほとんど効果は見られず (ILS 6%)、5日間処理では、65% ILS を生じた。これらの結果は ara-C が極少量だけデオキシシチジンキナーゼを含むことを示している。しかし

(27)

酵素によつて磷脂質と ara-CMP とに加水分解され、これによつて遊離した ara-CMP 連続的に ara-CTP に磷酸化される。従つて、ara-CMP が抱合体から放出されるので、ara-C の磷酸化に要するデオキシシチジンキナーゼは必要でない。

利 点

上記試験に示されるように、これらの抱合体は、親医薬の ara-C よりも、少ない投与量ででも、大きな活性を示し、これは逆に親医薬の治療指数の向上に後見することになる。更に、ara-C は半減期が短く、効果的にするには連続して投与する必要があつたが、抱合体は単回投与でもより大きく且つ優れた活性を有する。それ故、抱合体は持続放出医薬として使用することができる。特に抱合体が ara-C 耐性 L 1210リンパ性白血病マウスに有効であるという事実は、それが腫瘍細胞中で加水分解して ara-C と磷脂質を放出し、デオキシシチジンキナーゼ欠損耐性細胞に非常に有効であることを意味する。磷脂質は、1-O-

(28)

ながら、ara-C の抱合体、すなわち ara-CDP-DL-PBA (Ib) および ara-CDP-DL-PCA (Ic) は顕著な治療成果を生じ、痛に抵抗する大きな期待を抱けるものである。単回投与または一日に80 mg/kgの量で5日間使用した最適投与量400 mg/kgでは、ILS は259~356%となり、6匹のマウスのうち1から3匹のマウスは45日以上生存し、完全に治癒した。更に、第1、5および9日目に167 mg/kgを投与する(3回投与)計画では、ara-CDP-PBA-(Ib) は290%以上の ILS を示し、ara-CDP-PGA-(Ic) は374%以上の ILS を示し、3匹以上のマウス、特に ara-CDP-DL-PCA の場合には、6匹のマウスのうち6匹のマウスが45日以上生存し、治癒した。例えば、ara-C の1/3モルの投与量で5倍の効果を得た。抱合体がデオキシキナーゼ欠損 ara-C 耐性 L 1210リンパ性白血病マウスに有効であるという事実は、抱合体がエンドサイトーシスまたは他の機構によつて細胞内に導入され、

(29)

アルキル-2-O-アシルグリセロール-3-ホスフェートであり、生化学反応の後、1-O-アルキル-2-リンホスファチジル-コリンまたはエタノールアミンに変換され、これらの化合物自身は癌細胞に対して成長および転換抑制作用および免疫転形作用を有するので、それらは付加的および相乗効果を示すことが期待される。抱合体は、単に ara-C のプロドラッグではなく、更に新規な医薬と考えられる。更に、他の親油性プロドラッグと比較して、本抱合体は、超音波により水に透明に懸濁されるという利点を有する。白血病患者の ara-C を用いる治療では、この医薬に対する耐性の発生はデオキシシチジンキナーゼとシチジンドアミナーゼの細胞の相対的含量に関係することが文献に報告されていた[アンナルス オブ ニューヨーク アカデミー オブ サイエンス (Annals of New York Academy of Science) 255, 247 (1975)]。一方、ara-C 抱合体は、シチジンドアミナーゼに対して抵抗力を有し、アミノ基を加水分解しない。この抱合体は、

(30)

ara-C 耐性白血病患者の治療に大きな効果を有するものと考えられる。

(3)

表1 L 1210 リンパ性白血病細胞を腹腔内接種したマウスに対する抗癌活性^a

化 合 物	治療計画 (qd)	最適投与量 ^b mg(μ mole)/kg/日	生存日数			
			範囲	メジアン(T/C)	% ILS ^c	45日間生存数
<u>L 1210/0^d に対して</u>						
ara-C	1	400(1644)	8-10	8.0/7.0	14	0
	1-5	200(822)	7-18	16.0/7.0	129	0
ara-CDP-DL-PBA(Ib)	1	400(395)	15-29	25.0/7.0	257	0
	1-5	100(99)	18-32	23.0/7.0	229	1
ara-CDP-DL-PCA(Ic)	1	400(407)	20-33	27.5/7.0	293	0
	1-5	80(81)	21-30	25.5/7.0	264	0
<u>L 1210/ara-C^e に対して</u>						
ara-C	1	300(1233)	9-10	9.5/9.0	6	0
	1-5	60(247)	14	14.0/9.0	65	0
ara-CDP-DL-PBA(Ib)	1	400(395)	25->45	36.0/9.0	300	2
	1-5	80(79)	30->45	>41.0/9.0	>356 ^f	3
	1,5,9	167(165)	24->45	>39.0/10.0	>290 ^f	3
ara-CDP-DL-PCA(Ic)	1	400(407)	11->45	>38.5/9.0	>328 ^f	3
	1-5	80(81)	26->45	30.5/8.5	259	1
	1,5,9	167(169)	-	>45.0/9.5	>374 ^f	6
ara-CMP and DL-PCA-PE	1	131 and 258 (各 407)	3-10	10.0/9.0	11	0
	1-5	26.2 and 51.4 (各 81)	4-15	14.0/9.0	56	0

手 続 補 正 書

昭和61年3月7日

特許庁長官 宇賀道郎 殿

1. 事件の表示

昭和60年特許願第275853号

適

2. 発明の名称

新規ヌクレオシド誘導体およびその製造法

3. 補正をする者

事件との関係 特許出願人

住 所

名 称 保寧製薬株式会社

4. 代 理 人

住 所 東京都千代田区大手町二丁目2番1号
新大手町ビル206号室(電話 270-6641~6)

氏 名 (2770) 弁理士 湯 浅 恭 三

5. 補正の対象

明細書の「特許請求の範囲」と「発明の詳細な説明」の欄

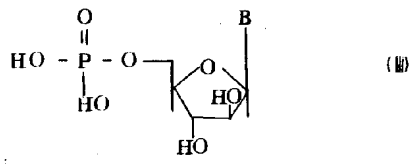
6. 補正の内容

別紙の通り

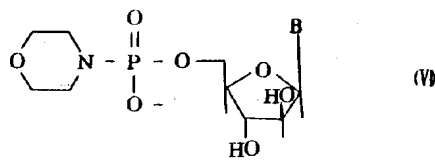


ド抱合体および製薬上受容可能な毒性のない塩。

(2) 式



(式中、Bはアデニン、シトシン、5-フルオロウラシル、5-アザシトシン、6-メルカプトプリンまたは7-デアザアデニンである)を有するヌクレオチドを縮合して、式



(式中、Bは上記定義の通りである)を有するモルホリデートまたは式

a: 6匹のDBA/2Jマウスの各群(平均体重、25g、雄)は、第0日に 1×10^6 L 1210 / 0細胞または 1×10^5 L 1210 / ara-C細胞を腹腔内に接種された。

b: 最大活性を生じる投与量。

c: 寿命の増加率、 $(T/C-1) \times 100$ 。

d: ara-C感受性 L 1210

e: デオキシシチジン欠損によるara-C耐性 L 1210。

f: 45日間。

g: ara-CMP(Ⅲ、B=シトシン)および rac-1-O-ヘキサデシル-2-O-ペルミトイルグリセロール-3-ホスフェート(Ⅳ、n=15, m=14, DL-混合物)。

代理人 弁理士 湯 浅 恭 三 (外4名)

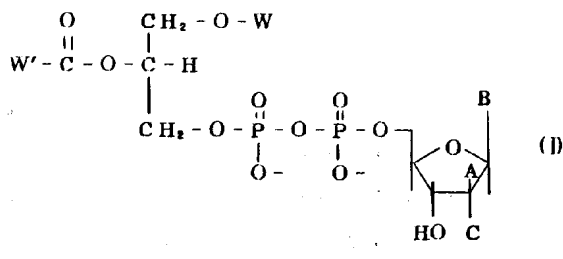


(別紙)

(別紙)

1. 特許請求の範囲を次のように補正する。

『(1) 式

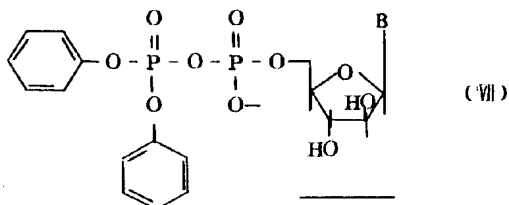


(式中、Bはアデニン、シトシン、5-フルオロウラシル、5-アザシトシン、6-メルカプトプリンまたは7-デアザアデニンであり、

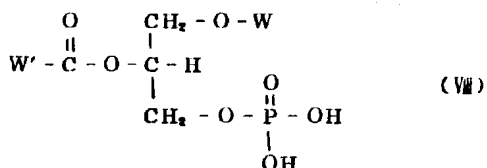
AおよびCはそれぞれ水素またはヒドロキシ基であり、

Wは8-20個の炭素原子を有する飽和または不飽和アルキル基または2あるいは3-アルコキシルアルキル基であり、

W' は7-19個の炭素原子を有する飽和または不飽和アルキル基である)を有するヌクレオン



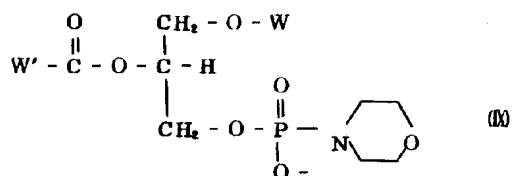
(式中、Bは上記定義の通りである)を有する
P¹-ヌクレオシド-5'-P²-ジフェニルピロホス
フェートとし、次いで式



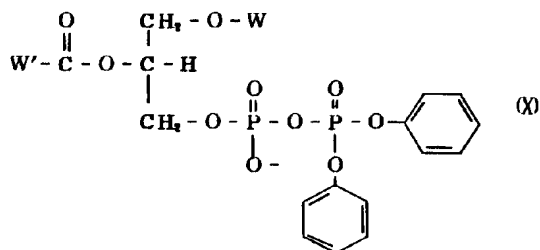
(式中、Wは8から20個の炭素原子を有する飽
和または不飽和アルキル基または2或は3-アル
コキシアルキル基であり、W'は7から19個の炭
素原子を有する飽和または不飽和アルキル基であ
る)を有する1-O-アルキル-2-O-アシル

(3)

コキシアルキル基であり、W'は7から19個の
炭素原子を有する飽和または不飽和アルキル基で
ある)を有する磷脂質を縮合して、式



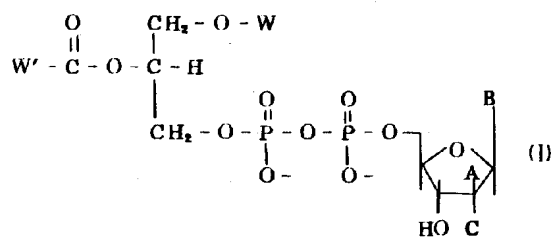
(式中、WおよびW'は上記定義の通りである)
を有する磷脂質モルホリデートまたは式



(式中、WおよびW'は上記定義の通りである)
を有するP¹-グリセロ-5'-P²-ジフェニルピロ
ホスフェートとし、次いでこれを式

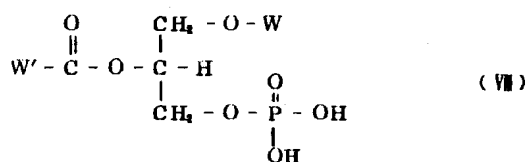
(5)

グリセロ-3-ホスフェートと反応させて、式



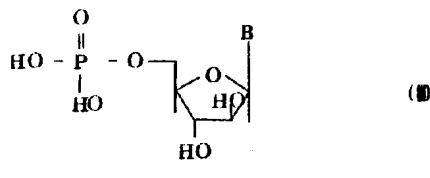
(式中、AおよびCはそれぞれ水素またはヒドロ
キシ基である)を有するヌクレオシド抱合体また
はその塩を得ることを特徴とする、式(I)を有する
ヌクレオシド抱合体の製造法。

(3) 式

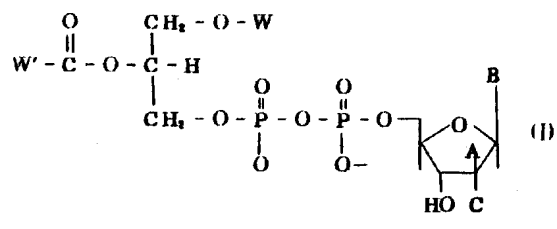


(式中、Wは8から20個の炭素原子を有する飽
和または不飽和アルキル基または2或は3-アル

(4)



(式中、Bはアデニン、シトシン、5-フルオロ
ウラシル、5-アザシトシン、6-メルカプトプ
リンまたは7-デアザアデニンである)を有する
ヌクレオチドと反応させて、式



(式中、AおよびCはそれぞれ水素またはヒドロ
キシ基である)を有するヌクレオシド抱合体また
はその塩を得ることを特徴とする、式(I)を有する
ヌクレオシド抱合体の製造法。

(4) 目的化合物が1-β-D-アラビノフラノ

(6)

シルシトシン - 5'-ジホスフェート - 1-O-オクタデシル - 2-O-パルミトイル - sn - グリセロールである特許請求の範囲第1項記載の化合物。

(5) 目的化合物が1-β-D-アラビノフラノシルシトシン - 5'-ジホスフェート - rac - 1-O-オクタデシル - 2-O-パルミトイルグリセロールである特許請求の範囲第1項記載の化合物。

(6) 目的化合物が1-β-D-アラビノフラノシルシトシン - 5'-ジホスフェート - rac - 1-O-ヘキサデシル - 2-O-パルミトイルグリセロールである特許請求の範囲第1項記載の化合物。

(7) 目的化合物が9-β-D-アラビノフラノシルアデニン - 5'-ジホスフェート - rac - 1-O-ヘキサデシル - 2-O-パルミトイルグリセロールである特許請求の範囲第1項記載の化合物。』

2. 7ページ下から4行、及び14ページ(Ⅲ)、(Ⅴ)、(Ⅶ) 及び同ページ最右欄の4つの式(したがって14ページ中計7カ所該当)中の

(7)

手 続 補 正 書

昭和61年6月10日

特許庁長官 宇賀 道 郎 殿

1. 事件の表示

昭和60年特許願第275853号



2. 発明の名称

新規ヌクレオシド誘導体およびその製造法

3. 補正をする者

事件との関係 特許出願人

住 所

名 称 保寧製薬株式会社

4. 代 理 人

住 所 東京都千代田区大手町二丁目2番1番
新大手町ビル206号室(電話 270-6641~6)

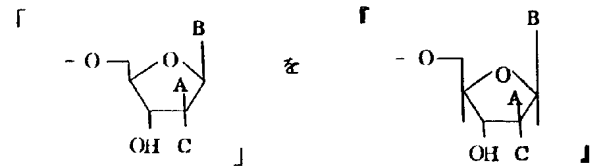
氏 名 (2770) 弁理士 湯 計 芳 恭 三

5. 補正命令の日付

昭和61年5月20日(発送日)

6. 補正の対象

昭和61年3月7日付手続補正書の補正の内容の欄



以 上

(8)

7. 補正の内容

(1) 昭和61年3月7日付の手続補正書7ページ下より3行から末行までを次の通りに訂正する。

『 2. 7ページ下から4行中の 』

(2) 同手続補正書8ページ2行の下に次のように加入する。

『 3. 14ページの反応工程図を別紙の通りに補正する。』

以 上

61.6.11

出願第三課

小野田

